



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELA BISSONI MOURA

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE ENDOCERVICITES BACTERIANAS E DAS  
ALTERAÇÕES DE MICROBIOTA VAGINAL EM GESTANTES

CURITIBA

2018

GABRIELA BISSONI MOURA

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE ENDOCERVICITES BACTERIANAS E DAS  
ALTERAÇÕES DE MICROBIOTA VAGINAL EM GESTANTES

Monografia apresentada à disciplina Trabalho de  
Conclusão de Curso II como requisito parcial à  
conclusão do Curso de Biomedicina, Setor de  
Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profª Drª Camila Marconi

CURITIBA

2018

## RESUMO

Apesar dos avanços obtidos na prática médica, o manejo da prematuridade espontânea ainda persiste como um dos principais desafios obstétricos. A maioria dos casos de prematuridade espontânea estão associados à presença de infecção na cavidade amniótica. A origem dos microrganismos que causam essa infecção é o trato genital inferior. Dessa forma, grande parte das espécies bacterianas identificadas são aquelas envolvidas nas infecções cervicais e nas alterações de microbiota vaginal. Dentre as alterações de microbiota vaginal, a principal e mais frequente é a vaginose bacteriana. Tal condição apresenta uma alta prevalência em mulheres brasileiras em idade reprodutiva, cerca de 30%, e, sozinha, constitui-se como fator de risco para a prematuridade espontânea. Embora as taxas de prematuridade no Brasil figurem entre as dez mais altas do planeta, existem poucos estudos disponíveis quanto à prevalência das infecções cervicais e alterações de microbiota nessa população. Dessa forma, este estudo objetiva determinar a prevalência de infecções cervicais pelas espécies bacterianas *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*, bem como das alterações de microbiota vaginal em gestantes atendidas em ambulatórios de pré-natal de alto risco para prematuridade espontânea. Trata-se de um estudo transversal envolvendo 18 gestantes atendidas em serviços de pré-natal do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, da Maternidade Victor Ferreira do Amaral do município de Curitiba/PR e da Unidade da Mulher e da Criança do município de Campo Largo/PR. Foram incluídas gestantes entre 18 e 40 anos com gestação simples. Após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, as participantes responderam a um questionário para a obtenção dos dados sociodemográficos, comportamentais e de antecedentes ginecológicos e obstétricos. Em seguida, foram submetidas ao exame ginecológico para aferição do pH vaginal e obtenção de amostras do terço médio da parede vaginal e da ectocérvice. As amostras vaginais foram utilizadas para classificação da microbiota segundo critérios de Nugent *et al.* (1991) e Donders *et al.* (2002). Já as amostras cervicais foram submetidas à extração do DNA para posterior pesquisa dos microrganismos-alvo pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. As análises estatísticas foram realizadas em *software* Stata (StataCorp, College Station, TX) utilizando nível de significância de 5%. Os resultados desse estudo permitiram a identificação de 3 gestantes com vaginose bacteriana e 2 com vaginite aeróbia. Já com relação às infecções cervicais, a espécie bacteriana mais prevalente foi *Ureaplasma parvum* (n=3), seguida pelo *Mycoplasma genitalium* (n=1). Em conclusão, apesar do tamanho amostral restrito, os resultados desse estudo apontam para uma alta prevalência de condições fortemente associadas à prematuridade espontânea como as alterações de microbiota vaginal e infecção por *Ureaplasma parvum*.

Palavras-chave: Saúde materno-infantil. Prematuridade. Microbiota vaginal. Vaginose bacteriana. Clamídia. Micoplasma.

## ABSTRACT

Despite the progress in health assistance, the management of spontaneous prematurity still figures as a challenge for obstetricians. Most cases of spontaneous prematurity are associated with intraamniotic infection. The origin of the microorganisms in amniotic cavity is the lower genital tract. Thus, most species are agents of cervical infections and vaginal microbiota alterations. Among the vaginal microbiota alterations, one of the main and most frequent is bacterial vaginosis. This condition is most prevalent (~30%) among women of reproductive age and is known risk factor for spontaneous prematurity. Prematurity rates in Brazil are among the largest on the planet, while cervical infections and microbiota alterations are poorly investigated in this population. Thus, the objective of this study was to detect infections caused by *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum*, as well as alterations in the vaginal microbiota in pregnant women attending high-risk prenatal outpatient clinics spontaneous prematurity. This is a cross-sectional study involving 18 pregnant women attending prenatal services at the Hospital de Clínicas of the Federal University of Paraná, Victor Ferreira do Amaral Maternity in Curitiba/PR and Primary Health Care Unit in Campo Largo/PR. Pregnant women between 18 and 40 years of age with simple gestation were included. Participants provided a consent term and answered a questionnaire for data assessment regarding sociodemographic, behavioral and gynecological and obstetric history. Then, they underwent gynecological examination for vaginal pH assessment and sampling of the middle third of the vaginal wall and ectocervix. Vaginal samples were used to classify the microbiota according to criteria of Nugent *et al.* (1991) and Donders *et al.* (2002). The DNA was obtained from cervical samples and used for detecting the 6 microorganisms of interest by real-time polymerase chain reaction (PCR). The software used was Stata (StataCorp, College Station, TX) and a significance level of 5% was considered. The results of this study allowed the identification of 3 pregnant women with bacterial vaginosis and 2 with aerobic vaginitis. Regarding cervical infection, the most prevalent bacterial infection was *Ureaplasma parvum* (n=3), followed by *Mycoplasma genitalium* (n=1). In conclusion, despite the restricted sample size, the results of the study point to a high prevalence of conditions associated with prematurity, such as the abnormal vaginal microbiota and *Ureaplasma parvum* infection.

Keywords: Maternal and fetal health. Prematurity. Vaginal microbiota. Bacterial vaginosis. Chlamydia. Mycoplasma.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	5
1.1 OBJETIVO GERAL	6
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
1.3 JUSTIFICATIVA	6
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	8
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	15
3.1 DESENHO E POPULAÇÃO DE ESTUDO	15
3.2 ASPECTOS ÉTICOS	15
3.3 PROTOCOLO DE ATENDIMENTO	15
3.4 CLASSIFICAÇÃO MICROSCÓPICA DA MICROBIOTA VAGINAL	16
3.5 EXTRAÇÃO DO DNA DAS AMOSTRAS ENDOCERVICAIS	16
3.6 DETECÇÃO DAS INFECÇÕES CERVICAIS BACTERIANAS POR PCR EM TEMPO REAL	17
3.7 TRATAMENTO DAS INFECÇÕES CÉRVICO-VAGINAIS	18
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	20
<b>5 CONCLUSÃO</b>	26
<b>REFERÊNCIAS</b>	27
<b>ANEXOS</b>	33

## 1 INTRODUÇÃO

A prematuridade é definida como nascimento anterior à 37<sup>a</sup> semana e, apesar dos avanços científicos que possibilitaram o melhor entendimento da sua fisiopatologia, tal condição ainda é um grande desafio para a prática obstétrica, acarretando graves complicações para a saúde materno-infantil (Goldenberg *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2016). As taxas de prematuridade no Brasil são alarmantes e, segundo a Organização Mundial da Saúde, o país apresenta um dos dez maiores índices do planeta (Blencowe *et al.*, 2012; WHO, 2017). A maior parte desses casos, cerca de 70%, ocorre de forma espontânea e é resultante do trabalho de parto prematuro e/ou da rotura prematura de membranas ovulares, majoritariamente associados às infecções intra-amnióticas (Muglia & Katz, 2010).

De forma geral, admite-se que a rota da infecção seja ascendente, através das bactérias presentes na microbiota vaginal que invadem a cavidade amniótica (Romero *et al.*, 2006; Romero *et al.*, 2014). Neste local, os microrganismos ativam a produção de citocinas inflamatórias que induzem a produção local de prostaglandinas e metaloproteinases, deflagrando as contrações uterinas e fragilizando as membranas (Challis *et al.*, 2001).

Os principais microrganismos que já foram associados à prematuridade espontânea também são aqueles associados à vaginose bacteriana, como *Prevotella* sp., *Gardnerella* sp., *Bacteroides* sp., entre outros. (Hillier *et al.*, 1995; Marconi *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2015). Entretanto, muitos aspectos dessa relação permanecem desconhecidos, em parte devido à grande complexidade da microbiota vaginal. Poucos estudos foram realizados com o intuito de avaliar a influência da composição da microbiota vaginal e de sua variação temporal com o desfecho gestacional em prematuridade. Mais recentemente, foi descoberta uma maior variabilidade temporal do microbioma em gestantes quando comparada às demais mulheres em idade reprodutiva, mas a literatura ainda carece de dados sobre o papel exato desses microrganismos para o resultado gestacional (Ravel *et al.*, 2011; Gajer *et al.*, 2012).

Além dos microrganismos oriundos da microbiota vaginal, espécies bacterianas frequentemente causadoras de endocervicites, como a *Chlamydia trachomatis* e a *Neisseria gonorrhoeae* são fortemente associadas a resultados adversos da gravidez, tais como corioamnionite (Donders *et al.*, 1991), parto

premature (Blas *et al.*, 2007) e baixo peso ao nascer (Kovács *et al.*, 1998), bem como desenvolvimento de doença inflamatória pélvica, uretrite, gravidez ectópica e infertilidade tubária (Parish *et al.*, 2003; Roca B., 2007).

Embora o Brasil enfrente altos índices de prematuridade, poucos estudos estão disponíveis quanto à prevalência das infecções cervicais bacterianas e das alterações de microbiota vaginal nessa população. Dessa forma, considerando as severas consequências dessas infecções, é de fundamental importância a realização de estudos que objetivem o desenvolvimento de novas estratégias de diagnóstico dessas condições para prevenção da prematuridade espontânea, bem como de outras complicações gestacionais associadas.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência das alterações de microbiota vaginal e das principais infecções cervicais bacterianas em gestantes atendidas em três serviços de pré-natal dos municípios de Curitiba/PR (Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e Maternidade Victor Ferreira do Amaral) e Campo Largo/PR (Unidade da Mulher e da Criança).

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Classificar microscopicamente o padrão da microbiota vaginal pelos métodos de Nugent *et al.* (1991) e de Donders *et al.* (2002) nas gestantes participantes do estudo;
- Determinar a prevalência das alterações de microbiota vaginal nas gestantes participantes do estudo.
- Determinar a prevalência das infecções cervicais bacterianas por *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* nas gestantes participantes do estudo;

## 1.3 JUSTIFICATIVA



Somente a instalação de programas efetivos de rastreio baseados na identificação e tratamento das infecções vaginais poderão reduzir as taxas de prematuridade na nossa população. Entretanto, apesar dos inúmeros métodos de detecção disponíveis para os diferentes organismos potencialmente presentes no ambiente cérvico-vaginal, as evidências ainda são escassas para definir qual o esquema ótimo de rastreio para detectar tais infecções durante a gestação. Dessa forma, a execução desse projeto se justifica na atual inconsistência de dados presentes na literatura que ainda geram incertezas quanto à necessidade de todas as mulheres serem rotineiramente rastreadas para as infecções do trato genital inferior e alterações de microbiota vaginal, independente do maior ou menor risco de prematuridade espontânea.

Considerando que a prematuridade acarreta aumentos significativos nos gastos de assistência perinatal e neonatal, além do delicado cenário econômico e social do país, é de fundamental importância determinar as prioridades diagnósticas para minimizar a ocorrência de desfechos gestacionais adversos. Nesse sentido, os dados oriundos desse estudo serão fundamentais para direcionar quanto aos agentes patológicos prioritários de atenção e à população que deverá ser rastreada.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A prematuridade, definida como o nascimento antes de completadas 37 semanas de gestação, é um grande desafio clínico uma vez que está fortemente relacionada a complicações maternas e neonatais imediatas, assim como a longo prazo, o que representa um importante problema médico, humano e social a ser enfrentado (Goldenberg *et al.*, 2008).

Ela é representada por dois grandes grupos de patologias obstétricas definidas como: Trabalho de Parto Pré-Termo (TPP) e Rotura Prematura de Membranas Pré-Termo (RPM-PT). O TPP é quando a gestante desencadeia precocemente as contrações uterinas, associado a modificações morfológicas do colo uterino como esvaecimento e dilatação cervicais, mantendo, entretanto, a integridade das membranas corioamnióticas. Já a RPM-PT é caracterizada pela rotura das membranas fetais e expulsão do líquido amniótico contido nelas sem o desencadear de contrações uterinas (Correa *et al.*, 2002).

Todos os anos, estima-se que 15 milhões de bebês nascem pré-termo e este número está aumentando. As complicações do parto pré-termo são a principal causa de óbito entre crianças menores de 5 anos, responsável por cerca de 1 milhão de óbitos em 2015 (Liu *et al.*, 2016). A taxa de parto pré-termo varia, globalmente, de 5% a 18% dos bebês nascidos (Blencowe *et al.*, 2012), sendo o Brasil um dos 10 países com maior número de partos pré-termo (WHO, 2017). Sobre o nascimento pré-termo sabe-se que aproximadamente 70% deles ocorrem de forma espontânea sendo que 45% resultam do TPP e 25% da RPM-PT. Os outros 30% são atribuídos à interrupção eletiva da gestação por intercorrências clínicas maternas e/ou fetais (Muglia & Katz, 2010).

No âmbito das sequelas advindas do nascimento pré-termo há relatos que mulheres que passam por essa experiência estão mais propensas ao parto cirúrgico, à depressão pós-parto e a longa permanência de internação hospitalar (Martin *et al.*, 2011). Os neonatos, por sua vez, estão mais sujeitos a problemas imediatos como estresse respiratório, enterocolite necrotizante, hemorragia intraventricular, retinopatias e dificuldades alimentares, e a longo prazo é comum observar inabilidades de aprendizagem, motora e visual, doenças pulmonares crônicas e elevado índice de infertilidade na vida adulta para os sobreviventes (Swamy *et al.*, 2008).

Múltiplos são os fatores de risco relacionados ao nascimento pré-termo. Suas causas diferem entre si, o que torna ainda mais desafiador o seu entendimento etiopatogênico. Por outro lado, estudos têm apontado para um entendimento fisiopatológico que, embora multifatorial, convergem para uma via final comum, que resulta no TPP. Os principais mecanismos envolvidos são: (1) ativação precoce do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nos compartimentos materno ou fetal, (2) hemorragia decidual, (3) distensão uterina patológica e (4) amplificada resposta inflamatória frente à infecção. Todos esses processos tem em comum a possibilidade de ativação dos mecanismos que levam à dinâmica uterina precoce, o encurtamento do colo do útero e/ou a rotura das membranas corioamnióticas (Moroz & Simhan, 2014).

Pesquisas recentes sugerem que os distúrbios maternos da imunidade, inata ou adquirida, são as principais causas de parto pré-termo. A esse respeito, Menon *et al.* (2012), descrevem que o trabalho de parto tem o envolvimento de mediadores inflamatórios, observando que no parto a termo a manifestação imune inflamatória parece ser mais restrita, enquanto que no parto pré-termo os mecanismos são desencadeados por uma maior atividade inflamatória. Essa condição de hiperestimulação inflamatória parece estar relacionada à presença de estímulo infeccioso como relatado em cerca de 50% dos casos de TPP e em até 70% dos casos de RPM-PT (Romero *et al.*, 2006).

Assim, considerando a participação dos agentes biológicos na etiopatogenia da prematuridade, admite-se que a rota de infecção para a cavidade amniótica seja a ascensão de bactérias presentes no trato genital inferior, com destaque para o *core* patológico da vaginose bacteriana, as quais se instalam nas membranas e invadem a cavidade amniótica proliferando-se no líquido amniótico, ao que denominamos de infecção intra-amniótica (Romero *et al.*, 2006).

Quando a resposta inflamatória é instalada, em função da infecção bacteriana, tem-se o diagnóstico de corioamnionite, que pode se apresentar nas condições clínica e histológica. A corioamnionite clínica acomete cerca de 1% a 2% dos partos a termo e 5% a 10% dos partos pré-termo. Por sua vez, a corioamnionite histológica é definida como a presença de leucócitos polimorfonucleares nas estratificações das membranas corioamnióticas, podendo também ser avaliada a densidade e degeneração tecidual das mesmas com o intuito de estimar a

intensidade e progressão da resposta inflamatória materna (Edwards *et al.*, 2005; Redline *et al.*, 2004).

Dessa forma, os estudos associam os achados microbiológicos e/ou corioamnionite a uma resposta inflamatória incitada a partir da presença de patógenos, e que se torna fator fundamental na patogênese do parto pré-termo (Romero *et al.*, 2014). Os mecanismos fisiopatológicos são protagonizados pela participação de *Toll-Like Receptors* (TLRs), os quais merecem destaque devido ao seu papel crucial contra a invasão microbiana, tendo em vista sua capacidade de reconhecer amplo espectro de padrões moleculares (Brodsky & Medzhitov, 2007; DiGiulio *et al.*, 2008).

O reconhecimento dos Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) pelos TLRs ativa diversas vias de sinalização intracelulares, as quais culminam na ativação de fatores de transcrição responsáveis pela expressão de genes envolvidos nas respostas inflamatórias e antivirais (Anwar *et al.*, 2013). Todas essas vias são iniciadas pela interação do TLR com seu ligante específico na superfície da célula ou nos compartimentos celulares, o que leva a dimerização dos TLRs. Essa dimerização resulta da aproximação dos domínios do Receptor Toll/IL-1(TIR) de um TLR com o domínio TIR do outro. Em seguida são recrutadas moléculas adaptadoras que participam do recrutamento de outras proteínas e da ativação de diversas quinases (Kawai & Akira, 2010).

Essa resposta inflamatória mediada pelos TLRs é motivada pelo recrutamento de neutrófilos ativados e, em menor grau, por macrófagos e mediadores pró-inflamatórios. Estes mediadores inflamatórios culminam com a indução da cicloxigenase 2 (COX-2), nas células do âmnio e decídua, e são responsáveis pela produção de prostaglandinas e metaloproteinases que deflagram as contrações uterinas e fragilizam as membranas corioamnióticas até a sua rotura, respectivamente (Challis *et al.*, 2001). Os achados em relação à correlação positiva entre níveis vaginais de IL-1 $\beta$  com concentração de sialidases tornam-se principalmente importantes em gestantes, já que foram considerados importantes fatores de risco para desfechos gestacionais desfavoráveis (Cauci & Culhane, 2007).

Muitas espécies de microrganismos já foram detectadas na cavidade amniótica e associadas ao parto pré-termo. Dentre as espécies já associadas à prematuridade, são observados agentes reconhecidamente patogênicos como *Chlamydia trachomatis* (Gravett *et al.*, 1986), *Trichomonas vaginalis* (Cotch *et al.*,

1997), *Neisseria gonorrhoeae* (Elliott *et al.*, 1990) e *Streptococcus agalactiae* (Regan *et al.*, 1981), até espécies que colonizam o ambiente vaginal como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* sp., *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* e são associadas à vaginose bacteriana (Hillier *et al.*, 1995; Marconi *et al.*, 2015). Dessa forma, embora muitas espécies de microrganismos já tenham sido associadas à prematuridade, muitos aspectos dessa relação permanecem desconhecidos, principalmente devido à grande complexidade microbiológica encontrada na vaginose bacteriana.

A vaginose bacteriana é a principal alteração de microbiota vaginal e se caracteriza pela perda da predominância de lactobacilos no ambiente vaginal. Essa condição acomete cerca de 30% das mulheres em idade reprodutiva, embora essa prevalência varie conforme a população estudada. Essa condição é mais prevalente em gestantes e já foi associada à prematuridade (Marconi *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2015). Sintomas são relatados em apenas 50% das mulheres com essa condição e incluem aumento do conteúdo vaginal, prurido e mau odor (Zhou *et al.*, 2004). A alta porcentagem de mulheres assintomáticas dificulta o diagnóstico da condição, deixando grande parcela da população sob risco aumentado das complicações associadas às alterações de microbiota vaginal. Tais alterações podem exercer efeito deletério para a saúde reprodutiva da mulher visto que estão associadas a inúmeras complicações ginecológicas e obstétricas (Culhane *et al.*, 2002) como maior risco de aborto espontâneo, corioamnionite (Donders *et al.*, 2000), parto pré-termo (Blas *et al.*, 2007) e baixo peso ao nascer (Kovács *et al.*, 1998), bem como desenvolvimento de doença inflamatória pélvica e risco aumentado para a aquisição de doenças sexualmente transmissíveis (Parish *et al.*, 2003; Roca B., 2007).

As endocervicites podem ser causadas por espécies de bactérias, vírus e protozoários, e na maioria das vezes são transmitidas pelo sexo. Diversas espécies bacterianas já foram envolvidas na etiologia das endocervicites. Dentre elas, as infecções por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* estão entre as mais relatadas em todo o mundo (CDC, 2011; Redmond *et al.*, 2015). Embora tais infecções sejam as mais encontradas mundialmente, a distribuição dentre os países não é homogênea. Prevalências significativamente maiores são relatadas em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento das regiões da África, América Central e do Sul e Sudeste asiático (WHO, 2010). Estudos mais recentes apontam para um aumento progressivo destas infecções também em países desenvolvidos da

América do Norte e Europa (WHO, 2016; Steenbeek *et al.*, 2009), sendo os microrganismos mais associados à endocervicite nesses países. No Brasil, estas infecções não são de notificação compulsória nos serviços de saúde e dessa forma, não é possível determinar de forma precisa suas prevalências. Os dados da literatura, embora limitados a algumas regiões e populações específicas do país, apontam dados alarmantes acerca de suas incidência e prevalência (Jalil *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2010; Piazzetta *et al.*, 2011).

A *Chlamydia* é uma das bactérias com menor tamanho e é classificada como Gram-negativa. Essa bactéria infecta preferencialmente células epiteliais colunares e tal característica determina os tipos de infecção causada por esse micro-organismo. Existem três espécies de *Chlamydia*: *Chlamydia trachomatis* que infecta principalmente os olhos, genitais e pulmões; *Chlamydia psittaci* e *Chlamydia pneumoniae* que só infecta os pulmões (McCormack W. M., 1994). A infecção por *Chlamydia trachomatis* acomete mais de 90 milhões de pessoas por ano (WHO, 2010). A prevalência desta infecção é muito variável de acordo com a população estudada, visto que são reportadas taxas de 1,4% na França (Goulet *et al.*, 2010), 10,9% no Canadá (Shields *et al.*, 2004), 4,9% na Inglaterra (LaMontagne *et al.*, 2007) e de 8,9% até 25,7% no Brasil (Miranda *et al.*, 2004; Ramos *et al.*, 2010). Considerando tais dados oriundos de trabalhos brasileiros, verifica-se também que a prevalência de infecção por *Chlamydia trachomatis* pode variar inclusive entre populações de um mesmo país.

A *Chlamydia trachomatis* pode causar uretrite, cervicite, faringite, proctite ou epididimite (Donders *et al.*, 1991; Kovács *et al.*, 1998; Blas *et al.*, 2007), embora as infecções assintomáticas sejam bastante comuns, ocorrendo em até 70% das mulheres infectadas (Dean D., 2009; Carey *et al.*, 2010). A infecção não tratada pode levar à doença inflamatória pélvica (DIP) em 10% a 40% das mulheres afetadas, o que pode resultar em infertilidade, gravidez ectópica e dor pélvica crônica (Parish *et al.*, 2003; Roca B., 2007). Além disso, a infecção por *Chlamydia trachomatis* durante a gravidez pode causar complicações como aborto espontâneo, ruptura prematura de membranas fetais, parto prematuro, baixo peso ao nascer e infecções neonatais, incluindo conjuntivite e pneumonia (Cohen C., 1999; MardRh, P., 2004).

A *Neisseria* é o único diplococo Gram-negativo patogênico. Duas espécies causam doenças em humanos: *Neisseria meningitidis* que causa irritação do sistema

nervoso central (meningite) e *Neisseria gonorrhoeae* que causa a segunda doença sexualmente transmissível mais comumente transmitida, a gonorréia. A infecção por *Neisseria gonorrhoeae* ocorre principalmente nas mucosas do trato genital e possui um grande número de mulheres assintomáticas. Esta infecção está associada a diversas complicações para saúde reprodutiva da mulher como uretrite gonocócica, doença inflamatória pélvica e infertilidade (Fernandes *et al.*, 2014). Na gestação, está associada à ocorrência de gravidez ectópica, corioamnionite, abscessos, peritonite e infecção no recém-nascido (Elliott *et al.*, 1990). Alguns estudos regionais realizados em coortes de mulheres brasileiras apontam prevalências variando de 0,5% até 3,0% para esta infecção (Jalil *et al.*, 2008; Barcelos *et al.*, 2008).

*Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* são bactérias gram-negativas pertencentes à família *Mycoplasmataceae* desprovidas de parede celular. Os patógenos do gênero *Ureaplasma* fazem parte da flora genital normal de homens e mulheres. Podem ser encontradas no trato genital inferior em quase 50% das mulheres grávidas como parte da flora vaginal normal. Essas bactérias foram descritas associadas a inúmeras doenças, incluindo: uretrite não específica, infertilidade, corioamnionite, nascimento de crianças mortas, nascimento prematuro, e, no período perinatal, pneumonia, displasia bronco-pulmonar e meningite (Gladwin, M. & Trattler, B., 2004).

O *Mycoplasma genitalium* é um microrganismo do trato genital. Está associado a importantes síndromes inflamatórias do trato reprodutivo. Em mulheres, pode causar cervicite, endometrite, uretrite e doença inflamatória pélvica. Outras evidências sugerem que esse microrganismo infecta regiões extragenitais como as membranas mucosas dos tratos respiratório e digestivo. Já o *Mycoplasma hominis* é uma bactéria oportunista sem parede celular que frequentemente coloniza o trato genital de mulheres sexualmente ativas. Podem ser comensais ou patogênicas, sendo agente causador de doença inflamatória pélvica e infecções durante a gravidez, e também tem sido associada com a vaginose bacteriana, febre pós-aborto e pós-parto. Em recém-nascidos pode causar pneumonia, meningite ou abscessos. Também está envolvido em infecções extragenitais, especialmente em pacientes imunocomprometidos (Gladwin, M. & Trattler, B., 2004).

Embora as prevalências das endocervicites bacterianas, bem como as taxas de prematuridade, relatadas no Brasil figurem entre as mais altas do planeta, poucas estratégias diagnósticas estão disponíveis tanto nos serviços públicos como nos

privados no país. Considerando a realidade dos países em desenvolvimento, especialmente aqueles de grande área territorial como o Brasil, as pessoas que procuram os serviços de saúde são frequentemente obrigadas a percorrer grandes distâncias até tais centros. Deve-se ressaltar ainda que, além do difícil acesso aos serviços de saúde, apenas a minoria desses centros está apta a realizar o diagnóstico laboratorial de doenças infecciosas, especialmente no contexto das infecções do trato genital inferior.



### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 DESENHO E POPULAÇÃO DE ESTUDO**

Trata-se de parte de estudo longitudinal maior intitulado “Busca ativa das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto risco para prematuridade” que prevê a inclusão e seguimento de 150 participantes ao longo dos três trimestres de gestação. Neste trabalho transversal, foram incluídas 18 gestantes atendidas nos seguintes serviços de pré-natal: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Curitiba/PR), Maternidade Victor Ferreira do Amaral (Curitiba/PR) e Unidade da Mulher e da Criança (Campo Largo/PR). Somente as gestantes que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão foram selecionadas para participar do estudo. Os critérios de inclusão foram: gestantes entre 18 e 40 anos e gestação simples. Já os critérios de exclusão foram: gemelaridade, síndrome dos anticorpos antifosfolípidos, pré-eclâmpsia, síndrome HELLP, diabetes gestacional, incompetência istmo-cervical, descolamento prévio de placenta, placenta prévia, sangramento vaginal, incompatibilidade de RH, trauma mecânico, oligoâmnio ou polidrâmnio, má formação ou óbito fetal. Também foram excluídas do estudo gestantes acometidas por doenças ou infecções sistêmicas como lúpus eritematoso sistêmico, hipertensão arterial crônica, doenças na tireoide ou que façam uso de drogas.

#### **3.2 ASPECTOS ÉTICOS**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná (CEP/SD-UFPR), sob parecer número 2.947.665 (Anexo 1). Todas as gestantes foram informadas quanto aos objetivos do estudo, procedimentos de coleta e análise das amostras. Aquelas que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo 2).

#### **3.3 PROTOCOLO DE ATENDIMENTO**

Antes da coleta das amostras, verificou-se o atendimento às seguintes condições: ausência de terapia com antimicrobianos nos últimos 30 dias, 72 horas de abstinência sexual, 72 horas de qualquer procedimento vaginal, como toque vaginal e ultrassom vaginal. Na inobservância de qualquer uma delas, as participantes foram agendadas para nova data de coleta.

Para a coleta do material biológico, após a inserção de espéculo estéril, foi aferido o pH vaginal e, utilizando-se zaragatoas estéreis, foram coletadas amostras do terço médio da parede vaginal para a confecção de dois esfregaços em lâmina para classificação da microbiota. Também foram coletadas amostras da ectocérvice com *cytobrush* para a pesquisa de infecções bacterianas cervicais. Por fim, as participantes responderam a um questionário (Anexo 3), desenvolvido especificamente para o estudo, para a obtenção dos dados sociodemográficos, comportamentais e antecedentes ginecológicos e obstétricos.

### 3.4 CLASSIFICAÇÃO MICROSCÓPICA DA MICROBIOTA VAGINAL

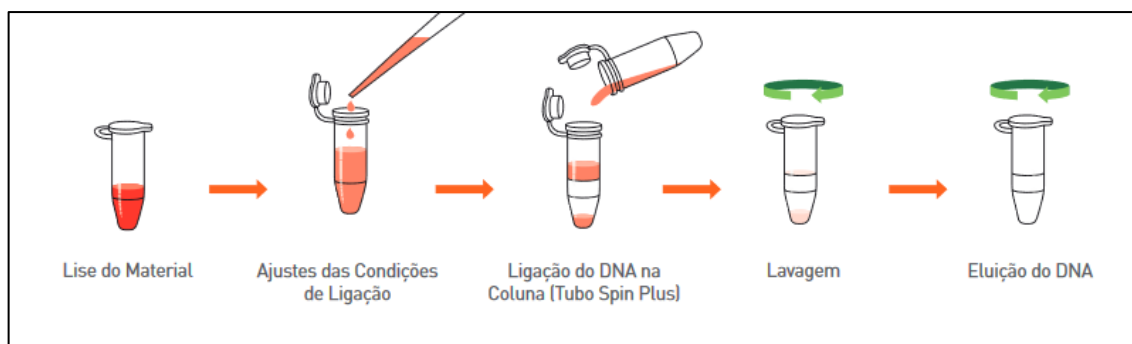
Uma das lâminas do conteúdo vaginal foi corada pelo método de Gram e a microbiota classificada segundo critérios de Nugent *et al.* (1991). Os esfregaços não-corados foram utilizados para a pesquisa de morfotipos compatíveis com leveduras, pseudo-hifas ou hifas de *Candida* sp. e para a classificação da microbiota segundo os critérios de Donders *et al.* (2002).

### 3.5 EXTRAÇÃO DO DNA DAS AMOSTRAS ECTOCERVICAIS

As amostras ectocervicais congeladas em tampão TET (Tampão Tris-EDTA-Tween) foram deixadas em temperatura ambiente até descongelarem e então foram homogeneizadas vigorosamente em *vortex* por 1 minuto. Em seguida, uma alíquota de 200 µL foi transferida para o microtubo de 1,5 mL para posterior extração do DNA utilizando o kit Biopur Kit Mini Spin Plus (Mobius Life Science, Comércio de Produto para Laboratórios Ltda., PR).

Para o processo de extração, as amostras foram submetidas ao processo de digestão com proteinase K (25 µL) e tampão de lise (200 µL), fornecidos pelo kit, por 15 minutos a 56 °C. Em seguida, as amostras digeridas foram transferidas para os tubos contendo uma coluna com membrana retentora de DNA (FIGURA 1). Após

centrifugação a 11000 x g por 1 minuto, o material filtrado no tubo de coleta foi descartado e foi adicionado 500 µL de tampão de lavagem à coluna. Essa etapa se repetiu utilizando os mesmos parâmetros. Após nova centrifugação, o material filtrado no tubo de coleta foi descartado e o material retido na coluna centrifugado novamente. Então, os tubos coletores foram substituídos por microtubos de 1,5 mL e foi adicionado 50 µL do tampão de eluição aquecido a 56 °C. Finalmente, após incubação em temperatura ambiente por 1 minuto, o material foi submetido a nova centrifugação a 11000 x g por 1 minuto, a coluna descartada e o DNA eluído armazenado a 20 °C até o momento das análises.



**FIGURA 1** – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS PROCEDIMENTOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA UTILIZANDO O KIT BIOPUR KIT MINI SPIN PLUS (MOBIUS LIFE SCIENCE, COMÉRCIO DE PRODUTO PARA LABORATÓRIOS LTDA., PR)

FONTE: <http://www.biometrix.com.br/kit-de-extracao/biopur-dna/> em 8 de agosto de 2018

### 3.6 DETECÇÃO DAS INFECÇÕES CERVICAIS BACTERIANAS POR PCR EM TEMPO REAL

Para a detecção das endocervicites foi utilizado o Kit comercial XGEN MULTI UP (Mobius Life Science, Comércio de Produto para Laboratórios Ltda., PR), que permite a detecção simultânea dos seis microrganismos de interesse pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, sendo eles: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*.

Para cada amostra, foram preparadas duas reações distintas, visto que a detecção do DNA bacteriano de três diferentes patógenos ocorre num mesmo tubo, segundo a organização das sequências iniciadoras apresentadas na FIGURA 2. Cada uma das reações foi realizada com um volume total de 25 µL contendo: 12,5

µL de tampão, 1,5 µL da solução de *primers*, 1 µL da enzima (todos fornecidos pelo kit) e 10 µL da amostra.

COMPONENTES	CONTEÚDO	QUANTIDADE
PS UP 1	Mistura de <i>Primers</i> e Sondas para CT, GC, MG, mCMV (CI)	2 x 48 µL
PS UP 2	Mistura de <i>Primers</i> e Sondas para Tvag, Mhom, Uurea, Uparv	2 x 48 µL

**FIGURA 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS SEQUÊNCIAS INICIADORAS (PRIMERS) NOS REAGENTES FORNECIDOS PELO KIT XGEN MULTI UP (MOBIUS LIFE SCIENCE, COMÉRCIO DE PRODUTO PARA LABORATÓRIOS LTDA., PR).** As amostras devem ser testadas em duas reações, uma contendo os *primers* da solução “PS UP 1” para detecção de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* e para o controle interno (mCMV) e a outra reação contendo os *primers* da solução “PS UP 2” para detecção de *T. vaginalis* (não incluído neste trabalho), *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum*

FONTE: [www.mobiustlife.com.br](http://www.mobiustlife.com.br) em novembro de 2016

As reações foram incubadas em instrumento *7500 Real Time PCR System* (Applied Biosystems) nas seguintes etapas de ciclagem: etapa *Hold* a 42 °C por 15 minutos, seguida de nova etapa *Hold* a 94 °C por 3 minutos. A ciclagem consistiu em 40 repetições de dois passos: 94 °C por 8 segundos, seguida de 60 °C por 34 segundos. Um total de 4 sondas fluorescentes distintas são utilizadas nessa metodologia: FAM (para detecção de *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis*, sendo o último não abrangido no presente estudo), VIC (para detecção de *Mycoplasma genitalium* e *Ureaplasma urealyticum*), ROX (para detecção de *Chlamydia trachomatis* e *Ureaplasma parvum*) e CY5 (para detecção *Mycoplasma hominis* e controle interno). Na presença de amplificação, os sinais fluorescentes captados foram analisados em *software 7500 Real Time PCR* (Applied Biosystems) e foram relatados como o valor limiar de ciclo (Ct). Ao final da amplificação, para validação do ensaio, todas as amostras devem ser positivas para o controle interno que consiste em citomegalovírus de murino (mCMV), inoculado (1 µL) em todas as amostras anteriormente ao processo de extração.

### 3.7 TRATAMENTO DAS INFECÇÕES CÉRVICO-VAGINAIS

Esse estudo não requer mudanças no protocolo de tratamento dessas condições, já realizado nos serviços de pré-natal participantes. Todas as mulheres tratadas, independentemente da condição e do período gestacional, foram

submetidas ao controle de tratamento após 30 a 45 dias do final do regime terapêutico.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os cálculos referentes às prevalências foram realizados utilizando análise descritiva simples em *software* Stata (StataCorp, College Station, TX).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 18 mulheres, até o momento, preencheram os critérios para inclusão no estudo e, portanto, foram avaliadas quanto à constituição da microbiota vaginal e à presença de infecções bacterianas cervicais. A mediana de idade das gestantes incluídas foi de 30,5 anos e a maioria estava entre 22 e 45 anos no momento da inclusão do estudo. Todas as mulheres (n=18) relataram ter um único parceiro no último ano e a maioria (77,8%) se auto reportaram como de etnia caucasiana (europeia). As demais características sociodemográficas, comportamentais e clínicas encontram-se detalhadas na TABELA 1.

**TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS, COMPORTAMENTAIS E CLÍNICAS DAS 18 GESTANTES INCLUÍDAS NO ESTUDO**

<b>Variáveis</b>	<b>Total (%) n=18</b>
<b>Idade</b>	
Até 21	2 (11,1)
22 a 45	16 (88,9)
> 45	0 (0)
<b>Idade gestacional (semanas)*</b>	
< 13	5 (27,8)
13 a 25	12 (66,7)
> 25	1 (5,6)
<b>Etnia</b>	
Caucasiano/Europeu	14 (77,8)
Afro-americano	4 (22,2)
Indígena	0 (0)
Oriental/Asiático	0 (0)
<b>Atividade remunerada</b>	
Não	8 (44,4)
Sim	10 (55,6)
<b>Estado civil</b>	
Solteira	0 (0)
Casada/União Estável	18 (100)
<b>Renda mensal da família (R\$)</b>	
< R\$1000,00	2 (11,1)
R\$1000,00 a R\$3000,00	8 (44,4)
> R\$3000,00	8 (44,4)
<b>continua</b>	

## continuação

Variáveis	Total (%) n=18
<b>Outro membro da família contribui para a renda</b>	
Não	1 (5,6)
Sim	17 (94,4)
<b>Nº de pessoas que vivem com essa renda</b>	
até 2	7 (38,9)
3 a 5	11 (61,1)
> 5	0 (0)
<b>Tabagismo</b>	
Não fuma	13 (72,2)
Fumava, mas parou > 1 ano	1 (5,6)
Fumava, mas parou < 1 ano	1 (5,6)
Fuma atualmente	3 (16,7)
<b>Álcool</b>	
Não bebe	18 (100)
Bebia até descobrir a gestação	0 (0)
Bebe atualmente	0 (0)
<b>Uso de drogas</b>	
Não	18 (100)
Sim	0 (0)
<b>Parceiro recente (4 meses)</b>	
Não	16 (88,9)
Sim	2 (11,1)
<b>Nº de parceiros/ano</b>	
0 a 1	18 (100)
2 ou +	0 (0)
<b>Nº de relações sexuais/semana</b>	
0 a 2	12 (66,7)
3 ou mais	6 (33,3)
<b>Histórico de IST</b>	
Não	16 (88,9)
Sim	2 (11,1)
<b>Histórico de corrimento</b>	
Não	13 (72,2)
Sim (sem prurido)	3 (16,7)
Sim (com prurido)	2 (11,1)
<b>Gravidez anterior</b>	
Não	9 (50)
Sim	9 (50)
<b>Histórico de prematuridade</b>	
Não	13 (72,2)
Sim	5 (27,8)



**conclusão**

<b>Variáveis</b>	<b>Total (%)</b> n=18
<b>Histórico de aborto</b>	
Não	14 (77,8)
Sim	4 (22,2)
<b>Corrimento anormal (atual)</b>	
Não	14 (77,8)
Sim	4 (22,2)
<b>Mau odor genital (atual)</b>	
Não	17 (94,4)
Sim	1 (5,6)
<b>Prurido genital (atual)</b>	
Não	18 (100)
Sim	0 (0)
<b>pH (atual)</b>	
< ou = 4,4	14 (77,8)
> 4,4	4 (22,2)

FONTE: O autor (2018)

\*Idade gestacional calculada a partir do exame ultrassonográfico precoce

IST: Infecção Sexualmente Transmissível

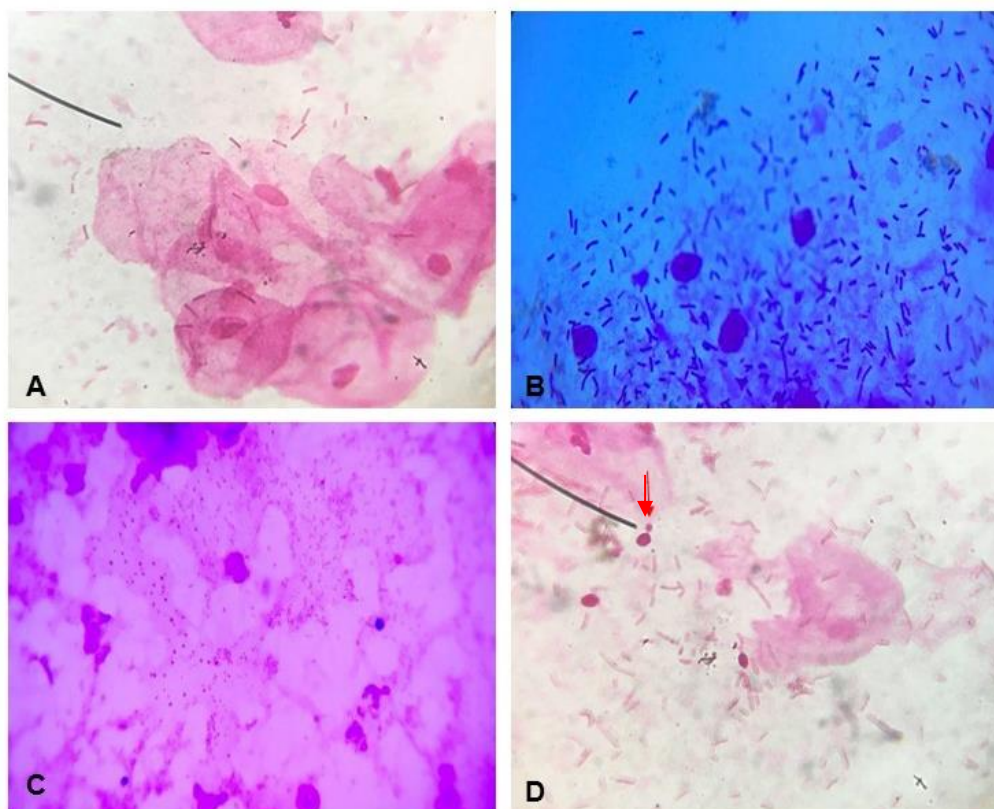
Os resultados da classificação microscópica da microbiota a partir dos esfregaços vaginais segundo os dois métodos utilizados neste estudo encontram-se na TABELA 2 e FIGURA 3.

**TABELA 2 – RESULTADO DA CLASSIFICAÇÃO MICROSCÓPICA DA MICROBIOTA VAGINAL BASEADO EM DOIS SISTEMAS DE SCORE DAS 18 GESTANTES INCLUÍDAS NO ESTUDO**

<b>Variáveis</b>	<b>Total (%)</b> n=18
<b>Score de Nugent <i>et al.</i> (1991)</b>	
0 a 3	15 (83,3)
4 a 6	0 (0)
7 a 10 (Vaginose bacteriana)	3 (16,7)
<b>Score de Donders <i>et al.</i> (2002)</b>	
0 a 2	14 (77,8)
3 a 4	2 (11,1)
5 a 6	0 (0)
> 6 (Vaginite aeróbia severa)	2 (11,1)
<b><i>Candida sp.</i></b>	
Não	17 (94,4)
Sim	1 (5,6)

FONTE: O autor (2018)

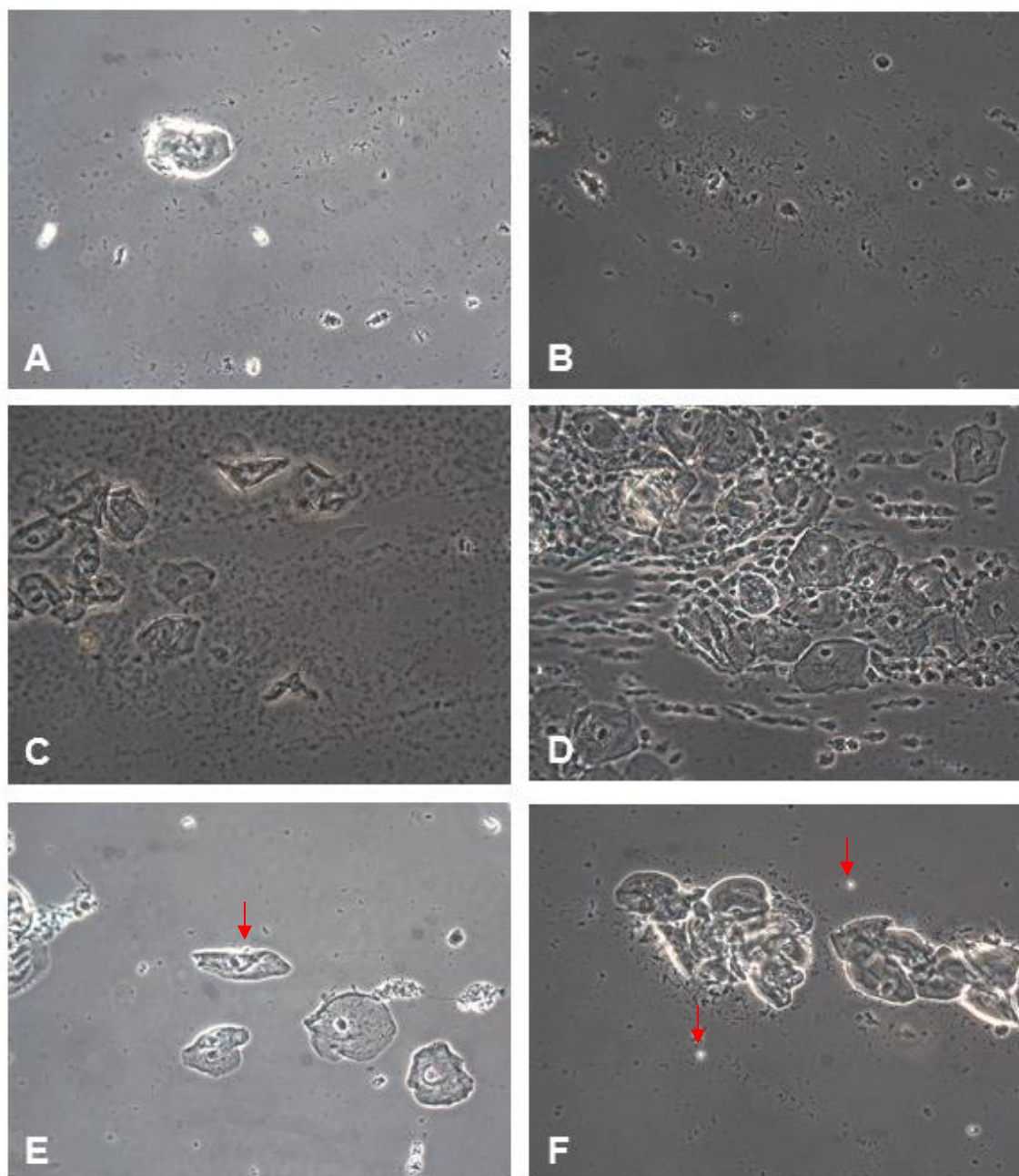
Observa-se que, segundo os critérios de classificação desenvolvidos por Nugent *et al.* (1991), a maioria das gestantes (n=15) apresentaram microbiota vaginal normal (FIGURA 3A e 3B), porém também foram observados 3 casos de vaginose bacteriana (FIGURA 3C). Além disso, foi detectado 1 caso de candidose vaginal, como pode-se observar na FIGURA 3D. Portanto, a prevalência de vaginose bacteriana nessa população foi de 16,7%.



**FIGURA 3 – FOTOMICROGRAFIAS DE ESFREGAÇOS DO TERÇO MÉDIO DE PAREDE VAGINAL CORADOS PELA TÉCNICA DE GRAM. A e B.** Microbiota vaginal normal com predominância de morfotipos bacterianos compatíveis com *Lactobacillus* sp. com presença de células epiteliais tróficas íntegras. **C.** Microbiota alterada, característica de vaginose bacteriana, com uma flora acessória bem diversa e presença de células polimorfonucleares. **D.** Presença de leveduras de *Candida* sp. (seta vermelha) acompanhadas de microbiota vaginal normal com predominância de *Lactobacillus* sp. e de células epiteliais tróficas íntegras e após citólise  
FONTE: O autor (2018)

Já na análise microscópica dos esfregaços vaginais segundo os critérios de Donders *et al.* (2002), foi observado que a maioria das mulheres (n=14) apresentou microbiota vaginal normal (FIGURA 4A e 4B), porém foram detectados 2 casos de vaginite aeróbia leve e 2 casos de vaginite aeróbia grave (FIGURA 4C e 4D). Também pode-se observar um caso de candidose vaginal (FIGURA 4F)). Dessa

forma, a prevalência de vaginite aeróbia mais severa nessa população foi de 11,1%. Além disso, foi observado um caso onde foram encontrados espermatozoides (FIGURA 4E), o que prejudica a nossa análise pois a microbiota vaginal fica alterada devido a diferença de pH causada pela presença da microbiota masculina.



**FIGURA 4 – FOTOMICROGRAFIAS DE ESFREGAÇOS DO TERÇO MÉDIO DE PAREDE VAGINAL ANALISADOS À FRESCO. A e B.** Microbiota vaginal normal com predominância de morfotipos bacterianos compatíveis com *Lactobacillus* sp. **C.** Microbiota alterada, característica de vaginite aeróbia grave, com uma flora acessória composta de cocos e presença de células epiteliais após citólise. **D.** Microbiota alterada, característica de vaginite aeróbia grave, com presença de células polimorfonucleares e células parabasais. **E.** Presença de espermatozoide (seta vermelha). **F.**

Presença de leveduras de *Candida* sp. (seta vermelha) acompanhadas de microbiota vaginal normal com predominância de *Lactobacillus* sp. e de células epiteliais tróficas íntegras e após citólise  
FONTE: O autor (2018)

Com relação aos resultados do PCR em tempo real, foram observadas 4 gestantes com infecção por pelo menos uma das espécies bacterianas de interesse para o estudo. Três participantes apresentaram infecção por *Ureaplasma parvum* e uma por *Mycoplasma genitalium*.

Dessa forma, apesar do tamanho amostral do estudo ter sido restrito a 18 participantes, importantes alterações de microbiota vaginal, como a vaginose bacteriana e a vaginite aeróbia em sua forma mais severa, puderam ser identificadas. Ambas as condições detectadas, por serem independentemente associadas à prematuridade, necessitam de intervenções terapêuticas (Sherrard *et al.*, 2018).

Relacionado às infecções cervicais bacterianas, embora o agente etiológico mais comum seja a *Chlamydia trachomatis*, nenhum caso foi observado nessa população. Isso se deve principalmente à idade das participantes do estudo, visto que a infecção por *Chlamydia trachomatis* é mais prevalente em adolescentes e jovens adultos de até 24 anos (Torrone *et al.*, 2014). Os resultados desse estudo apontam que a espécie bacteriana mais frequente na cérvix das gestantes é o *Ureaplasma parvum*. De fato, ao longo dos anos o gênero *Ureaplasma*, apesar de pertencer à microbiota vaginal de mulheres saudáveis, esteve associado à prematuridade. Nos últimos anos, a espécie *Ureaplasma parvum* tem ganhado destaque após a sua identificação ter sido viabilizada pelas técnicas moleculares (Capoccia *et al.*, 2013; Payne *et al.*, 2016). A cervicite por *Mycoplasma genitalium* foi apenas recentemente descoberta. Por ser o menor genoma de bactérias de vida livre, esse microrganismo apresenta capacidade biosintética muito limitada, o que dificultou por muitos anos sua identificação a partir de materiais clínicos. Hoje, a comunidade científica aceita que a cervicite por *Mycoplasma genitalium* é uma infecção sexualmente transmissível, mas ainda conta com um conhecimento bastante restrito em relação a sua patogênese e potenciais implicações para o desfecho gestacional (McGowin *et al.*, 2017).

## 5 CONCLUSÃO

Apesar do tamanho amostral restrito, o trabalho atual atenta para uma alta prevalência de condições fortemente associadas à prematuridade espontânea, como as alterações de microbiota vaginal e a infecção por *Ureaplasma parvum*. Esses achados apontam para uma relevância da composição da microbiota vaginal em relação ao seu potencial de ascensão ao canal cervical e, conseqüentemente, ao trato genital inferior.

Além disso, há a necessidade de estudos futuros para podermos identificar qual a população de risco, que deverá ser rastreada, bem como quais os agentes patológicos prioritários de atenção. Com esses dados, será possível desenvolver novas estratégias de diagnóstico dessas condições para a prevenção da prematuridade espontânea e suas complicações associadas.

## REFERÊNCIAS

- ANWAR, M. A.; BASITH, S.; CHOI, S. **Negative regulatory approaches to the attenuation of Toll-like receptor signaling.** 45ª edição. Experimental & Molecular Medicine, 2013. Páginas: 443-457.
- BARCELOS, M. R. B. *et al.* **Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco.** 30ª edição. Bras Ginecol Obstet, 2008. Páginas: 349-54.
- BLAS, M. M. *et al.* **Pregnancy outcomes in women infected with *Chlamydia trachomatis*: a population-based cohort study in Washington State.** 83ª edição. Sex Transm Infect, 2007. Páginas: 314-318.
- BLENOWE, H. *et al.* **National, regional and worldwide estimates of preterm birth.** 379ª edição. The Lancet, 2012. Páginas: 2162-2172.
- BRODSKY, I.; MEDZHITOV, R. **Two modes of ligand recognition by TLRs.** 130ª edição. Cell, 2007. Páginas: 979-981.
- CAPOCCIA, R.; GREUB, G.; BAUD, D. ***Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes.** 26ª edição. Curr Opin Infect Dis, 2013. Páginas: 231-240.
- CAREY, A. J.; BEAGLEY, K. W. ***Chlamydia trachomatis*, a hidden epidemic: effects on female reproduction and options for treatment.** 63ª edição. Am J Reprod Immunol, 2010. Páginas: 576-586.
- CAUCI, S.; CULHANE, J. F. **Modulation of vaginal immune response among pregnant women with bacterial vaginosis by *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and yeast.** 196ª edição. Am J Obstet Gynecol, 2007. Páginas: 1-7.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Sexually Transmitted Disease Surveillance.** CDC. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2011.
- CHALLIS, J. R. *et al.* **Understanding preterm labor.** 943ª edição. Ann N Y Acad Sci, 2001. Páginas: 225-234.
- COHEN, C. R.; BRUNHAM, R. C. **Pathogenesis of *Chlamydia* induced pelvic inflammatory disease.** 75ª edição. Sex Transm Infect, 1999. Páginas: 21-24.
- CORREIA, M. D.; JÚNIOR, M. D. C. **Parto Pré-termo.** 9ª edição. Rezende J. Obstetrícia, 2002. Páginas: 892-914.
- COTCH, M. F. *et al.* ***Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group.** 24ª edição. Sex Transm Dis, 1997. Páginas: 353-360.

CULHANE, J. F. *et al.* **Exposure to chronic stress and ethnic differences in rates of bacterial vaginosis among pregnant women.** 187ª edição. Am J Obstet Gynecol, 2002. Páginas: 1272-1276.

DEAN, D. ***Chlamydia trachomatis* today: treatment, detection, immunogenetics and the need for a greater global understanding of chlamydial disease pathogenesis.** 45ª edição. Drugs Today, 2009. Páginas: 25-31.

DIGIULIO, D. B. *et al.* **Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation.** 3ª edição. PLoS One, 2008. Páginas: 3056-3066.

DONDERS, G. G. *et al.* **The association between *Chlamydia* cervicitis, chorioamnionitis and neonatal complications.** 249ª edição. Arch Gynecol Obstet, 1991. Páginas: 79-85.

DONDERS, G. G. *et al.* **Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion.** 183ª edição. Am J Obstet Gynecol, 2000. Páginas: 431-437.

DONDERS, G. G. G. *et al.* **Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis.** 109ª edição. BJOG, 2002. Páginas: 34-43.

EDWARDS, R. K. **Chorioamnionitis and labor.** 32ª edição. Obstet Gynecol Clin North Am, 2005. Páginas: 287-296.

ELLIOTT, B. *et al.* **Maternal gonococcal infection as a preventable risk factor for low birth weight.** 161ª edição. J Infect Dis, 1990. Páginas: 531-536.

FERNANDES, L. B. *et al.* **Infecção por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*: fatores associados à infertilidade em mulheres atendidas em um serviço público de reprodução.** 36ª edição. Rev Bras Ginecol Obstet, 2014. Páginas: 353-358.

FERREIRA, C. S. T. *et al.* **Bacterial vaginosis in pregnant adolescents: proinflammatory cytokine and bacterial sialidase profile. Cross-sectional study.** 133ª edição. Sao Paulo Med J, 2015. Páginas: 465-470.

GAJER, P. *et al.* **Temporal dynamics of the human vaginal microbiota.** 4ª edição. Sci Transl Med, 2012. Páginas: 132-152.

GLADWIN, M.; TRATTLER, B. **Clinical Microbiology made ridiculously simple.** 3ª edição, 2004.

GOLDENBERG, R. L. *et al.* **Epidemiology and causes of preterm birth.** 371ª edição. Lancet, 2008. Páginas: 75-84.



GOULET, V. *et al.* **Prevalence of *Chlamydia trachomatis*: results from the first national population-based survey in France.** 86ª edição. Sex Transm Infect, 2010. Páginas: 263-270.

GRAVETT, M. G. *et al.* **Independent associations of bacterial vaginosis and *Chlamydia trachomatis* infection with adverse pregnancy outcome.** 256ª edição. JAMA, 1986. Páginas: 1899-1905.

HILLIER, S. L. *et al.* **Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant.** 333ª edição. New Engl J Med, 1995. Páginas: 1737-1742.

JALIL, E. M. *et al.* **Prevalência da infecção por clamídia e gonococo em gestantes de seis cidades brasileiras.** 30ª edição. Rev Bras Ginecol Obstet, 2008. Páginas: 614-619.

KAWAI, T.; AKIRA, S. **The role of pattern-recognition receptor in innate immunity: update of Toll-like receptors.** 11ª edição. Nat Immunol, 2010. Páginas: 373-384.

KOVÁCS, L. *et al.* **The frequency and the role of *Chlamydia trachomatis* infection in premature labor.** 62ª edição. Int J Gynaecol Obstet, 1998. Páginas: 47-54.

LAMONTAGNE S. *et al.* **Incidence and reinfection rates of genital chlamydial infection among women aged 16–24 years attending general practice, family planning and genitourinary medicine clinics in England: a prospective cohort study by the *Chlamydia* Recall Study Advisory Group.** 83ª edição. Sex Transm Infect, 2007. Páginas: 292-303.

LIU, L. *et al.* **Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals.** 388ª edição. Lancet, 2016. Páginas: 3027-3035.

MARCONI, C. *et al.* **Chlamydial infection in a high risk population: association with vaginal flora patterns.** 285ª edição. Arch Gynecol Obstet, 2011. Páginas: 1013-1018.

MARCONI, C. *et al.* **Prevalence of and risk factors for bacterial vaginosis among women of reproductive age attending cervical screening in southeastern Brazil.** 131ª edição. Int J Gynaecol Obstet, 2015. Páginas: 137-141.

MARDH, P. A. **Tubal factor infertility, with special regard to chlamydial salpingitis.** 17ª edição. Curr Opin Infect Dis, 2004. Páginas: 49-52.

MARTIN, J. A. *et al.* **Births: final data for 2009.** 60ª edição. Natl Vital Stat Rep, 2011. Páginas: 1-72.

MCCORMACK, W. M. **Current Concepts: Pelvic Inflammatory Disease.** 330ª edição. N Engl J Med, 1994. Páginas: 115-119.

MCGOWIN, C. L.; TOTTEN, P. A. **The Unique Microbiology and Molecular Pathogenesis of *Mycoplasma genitalium***. 216ª edição. J Infect Dis, 2017. Páginas: 1-7.

MENON, R. *et al.* **Short fetal leukocyte telomere length and preterm prelabor rupture of the membranes**. 7ª edição. PLoS ONE, 2012. Páginas: 1-6.

MIRANDA, A. E. *et al.* **Prevalence and risk behaviors for chlamydial infection in a population-based study of female adolescents in Brazil**. 31ª edição. Sex Transm Dis, 2004. Páginas: 542-546.

MOROZ, L. A.; SIMHAN, H. N. **Rate of sonographic cervical shortening and biologic pathways of spontaneous preterm birth**. 210ª edição. Am J Obstet Gynecol, 2014. Páginas: 555-570.

MUGLIA, L. J.; KATZ, M. **The enigma of spontaneous preterm birth**. 362ª edição. N Engl J Med, 2010. Páginas: 529-535.

NUGENT, R. P.; KROHN, M. A.; HILLIER, S. L. **Reability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation**. 29ª edição. J Clin Microbiol, 1991. Páginas: 297-301.

OLIVEIRA, M. L. *et al.* **Infecção por *Chlamydia* em pacientes com e sem lesões intraepiteliais cervicais**. 54ª edição. Rev Assoc Med Bras, 2008. Páginas: 506-512.

PARISH, W. L. *et al.* **Population based study of chlamydial infection in China: a hidden epidemic**. 289ª edição. JAMA, 2003. Páginas: 1265-1273.

PAYNE, M. S. *et al.* ***Ureaplasma parvum* genotype, combined vaginal colonization with *Candida albicans*, and spontaneous preterm birth in an Australian cohort of pregnant women**. 18ª edição. BMC Pregnancy Childbirth, 2016. Páginas: 312.

PEREIRA, S. M. *et al.* **Simultaneous *Chlamydia trachomatis* and HPV infection in pregnant women**. 38ª edição. Diagn Cytopathol, 2010. Páginas: 397-401.

PIAZZETTA, R. C. *et al.* **Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections in sexual actives young women at a southern Brazilian city**. 33ª edição. Rev Bras Ginecol Obstet, 2011. Páginas: 328-333.

RAMOS, B. R. *et al.* **Prevalence and risk factors of *Chlamydia trachomatis* cervicitis in pregnant women at the Genital Tract Infection in Obstetrics Unit Care at Botucatu Medical School, São Paulo State University—UNESP, Brazil**. 15ª edição. J Low Genit Tract Dis, 2010. Páginas: 20-24.

RAVEL, J. *et al.* **Vaginal microbiome of reproductive-age women**. 108ª edição. Proc Natl Acad Sci, 2011. Páginas: 4680-4687.

REDLINE, R. W. **Placental inflammation**. 9ª edição. Sem Neonatol, 2004. Páginas: 265-274.

REDMOND, S. M. *et al.* **Genital *Chlamydia* Prevalence in Europe and Non-European High Income Countries: Systematic Review and Meta-Analysis**. 10ª edição. PLoS ONE, 2015. Páginas: 1-19.

REGAN, J. A.; CHAO, S.; JAMES, S. L. **Premature rupture of membranes, preterm delivery, and group B streptococcal colonization of mothers**. 141ª edição. Am J Obstet Gynecol, 1981. Páginas: 184-186.

ROCA, B. **Chlamydial infections**. 224ª edição. An Med Int, 2007. Páginas: 292-299.

ROMERO, R. *et al.* **Inflammation in preterm and term labour and delivery**. 5ª edição. Semin Fetal Neonatal Med, 2006. Páginas: 317-326.

ROMERO, R.; DEY, S. K.; FISHER, S. J. **Preterm labor: one syndrome, many causes**. 345ª edição. Science, 2014. Páginas: 760-765.

SHERRARD, J. *et al.* **European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge**. 29ª edição. Int J STD AIDS, 2018. Páginas: 1258-1272.

SHIELDS, S. A. *et al.* **Prevalence and correlates of *Chlamydia* infection in Canadian street youth**. 34ª edição. J Adolesc Health, 2004. Páginas: 384-390.

STEENBEEK, A. *et al.* **An Epidemiological Survey of Chlamydial and Gonococcal Infections in a Canadian Arctic Community**. 36ª edição. Sex Transm Dis, 2009. Páginas: 79-83.

SWAMY, G. K.; OSTBYE, T.; SKJAERVEN, R. **Association of preterm birth with long-term survival, reproduction, and next-generation preterm birth**. 299ª edição. JAMA, 2008. Páginas: 1429-1436.

TORRONE, E.; PAPP, J.; WEINSTOCK, H. **Prevalence of *Chlamydia trachomatis* genital infection among persons aged 14-39 years--United States, 2007-2012**. 63ª edição. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2014. Páginas: 834-838.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections**. WHO, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/docstore/hiv/GRSTI/003.htm>>. Acessado: 16/11/2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Sexually Transmitted Infections (STIs)**. WHO, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>>. Acessado: 26/03/2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Preterm birth**. WHO, 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>>. Acessado em: 18/09/2017.

ZHOU, X; BENT, S. J.; SCHNEIDER, M. G. *et al.* **Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods.** 150<sup>a</sup> edição. Microbiology, 2004. Páginas: 2565-2573.

## ANEXO 1

### PARECER CEP/SD-UFPR

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARANÁ -



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Busca ativa das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto risco para prematuridade.

**Pesquisador:** Camila Marcon

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 57341416.3.0000.0102

**Instituição Proponente:** Departamento de Patologia Básica

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.947.665

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda ao projeto aprovado, solicitando: (1) a inclusão das gestantes positivas para o vírus da imunodeficiência humana (HIV); (2) a inclusão de informações quanto à carga viral no momento do recrutamento; (3) inclusão dos pesquisadores Natalia Sales e Prof. Dr. Edson Gomes Tristão; (4) Correção nos métodos do projeto, o material utilizado para pesquisa de infecções cervicais é obtido com cytobrush da parte externa do colo uterino para adequação à condição de gestante das participantes.

##### Objetivo da Pesquisa:

###### Objetivo Primário:

- Avaliar o efeito do rastreamento sistematizado longitudinal das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal em gestantes com alto risco para prematuridade espontânea.

###### Objetivos Secundários:

- Comparar a prevalência das infecções do trato genital inferior em gestantes de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Comparar a prevalência alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Caracterizar o microbioma vaginal gestantes de alto e baixo risco para prematuridade

**Endereço:** Rua Padre Camargo, 285 - Têteo

**Bairro:** Alto da Glória

**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**Telefone:** (41)3360-7259

**CEP:** 80.060-240

**E-mail:** cometica.saude@ufpr.br

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.947.665

espontânea;

- Comparar o perfil de mediadores pró-inflamatórios nos diferentes tipos de comunidades bacterianas vaginais;
- Comparar os níveis de sialidases bacterianas nos diferentes tipos de comunidades bacterianas vaginais;
- Avaliar a dinâmica temporal do microbioma vaginal durante a gestação de alto e baixo risco para prematuridade espontânea;
- Determinar a associação dos padrões de microbiota vaginal determinados por microscopia com a real composição do microbioma;
- Testar a associação entre a maior prevalência de determinados tipos de comunidade bacteriana com o prognóstico gestacional;
- Comparar o desfecho gestacional nas duas populações do estudo.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

##### Riscos:

As participantes serão submetidas a um questionário especialmente formulado para o estudo para obtenção dos dados sociodemográficos e comportamentais. Algumas gestantes poderão eventualmente se sentirem desconfortáveis em fornecer algumas respostas. Nesse sentido,

profissionais previamente treinados deverão conduzir o questionário, de forma que deverão orientar as participantes do estudo que, caso optem, poderão deixar de responder algumas perguntas, sem prejuízo da sua inclusão no estudo. Já com relação ao diagnóstico das infecções do trato genital inferior, tendo em vista que muitas delas podem ser transmitidas pelo sexo, mediante um resultado positivo, apenas os profissionais da saúde

de cada serviço poderão comunicar às participantes e indicar o tratamento. Além de estarem aptos a realizar o tratamento de quaisquer infecções detectadas nesse estudo, o corpo clínico dos serviços envolvidos também poderá oferecer apoio psicológico para as participantes.

##### Benefícios:

As participantes do estudo se beneficiarão do estudo por contarem com um rastreio contínuo das infecções do trato genital inferior e das alterações de microbiota vaginal durante os três trimestres de gestação, de forma que serão realizados os tratamentos adequados mediante eventuais resultados positivos. Aquelas que não apresentarem nenhuma das infecções testadas não se beneficiarão diretamente com o estudo, porém contribuirão com esse estudo que visa compreender melhor as causas infecciosas da prematuridade. Deve-se ressaltar que tais informações constam no TCLE.

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo  
Bairro: Alto da Glória  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

**UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARANÁ -**



Continuação do Parecer: 2.947.865

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Além da metodologia aprovada na versão anterior, também serão realizados lavados vaginais com 3mL de solução salina estéril e coletadas amostras ectocervicais por 3 rotações do cytobrush em 360º. As mulheres incluídas também responderão a um questionário, elaborado especificamente para o estudo, para obtenção de dados sócio demográficos, comportamentais e de antecedentes ginecológicos e obstétricos. No caso daquelas gestantes que apresentarem soropositividade para o vírus da imunodeficiência humana, a carga viral será anotada pelo pesquisador no questionário no momento do recrutamento.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos foram anexados.

**Recomendações:**

Corrigir a primeira linha do TCLE ( Setor de Ciências Biológicas).

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A emenda submetida está aprovada.

- É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

\*Em caso de projetos com Coparticipantes que possuam Comitês de Ética, seu TCLE somente será liberado após aprovação destas instituições.

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS).

Favor agendar a retirada do TCLE pelo telefone 41-3360-7259 ou por e-mail [cometica.saude@ufpr.br](mailto:cometica.saude@ufpr.br), necessário informar o CAAE.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo  
Bairro: Alto da Glória  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: [cometica.saude@ufpr.br](mailto:cometica.saude@ufpr.br)



**UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARANÁ -**



Continuação do Parecer: 2.947.665

Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo.

Emenda – ver modelo de carta em nossa página: [www.cometica.ufpr.br](http://www.cometica.ufpr.br) (obrigatório envio)

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1213397_E3.pdf	04/09/2018 09:41:52		Aceito
Outros	decla_uso_especifico_e3.pdf	03/09/2018 10:07:08	Camila Marcon	Aceito
Outros	termo_confidencialidade_e3.pdf	03/09/2018 10:06:40	Camila Marcon	Aceito
Outros	termo_responsabilidade_e3.pdf	03/09/2018 10:06:25	Camila Marcon	Aceito
Outros	JustificativaEmenda3_HIV_Nat_Tristao.pdf	03/09/2018 10:04:54	Camila Marcon	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjcompletoEMENDA3.docx	03/09/2018 10:04:26	Camila Marcon	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPrematuridadeposEMENDA3.doc	03/09/2018 10:04:15	Camila Marcon	Aceito
Outros	ConcordanciaVictorAmaralPendenciaE2.pdf	05/05/2018 07:53:36	Camila Marcon	Aceito
Outros	67CoparticipanteHCPendenciaE2.pdf	05/05/2018 07:53:01	Camila Marcon	Aceito
Outros	6CoparticipanteUNESPPendenciaE2.pdf	05/05/2018 07:52:44	Camila Marcon	Aceito
Outros	Emenda2_CorrecaoParticipantes_final.pdf	27/04/2018 16:25:00	Camila Marcon	Aceito
Outros	TermoDeConfidencialidadeEMENDA2ok.pdf	27/04/2018 16:24:21	Camila Marcon	Aceito
Outros	1declaracaousoespecifico_EMENDA2ok.pdf	27/04/2018 16:22:27	Camila Marcon	Aceito
Outros	TermodeReponsabilidadeEMENDA2ok.pdf	27/04/2018 16:21:46	Camila Marcon	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjcompletoEMENDA2.docx	27/04/2018 16:20:52	Camila Marcon	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPrematuridadeposEMENDA.doc	09/02/2018 21:47:29	Camila Marconi	Aceito

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: [cometica.saude@ufpr.br](mailto:cometica.saude@ufpr.br)

**UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARANÁ -**



Continuação do Parecer: 2.947.665

Outros	declaracaousoespecificoEMENDA.pdf	08/02/2018 21:12:25	Camila Marconi	Aceito
Outros	ConcordanciaCoParticipacao.pdf	08/02/2018 21:08:30	Camila Marconi	Aceito
Outros	ServicosEnvolvidos.pdf	08/02/2018 21:07:51	Camila Marconi	Aceito
Outros	TermoDeConfidencialidadeEMENDA.pdf	08/02/2018 21:06:26	Camila Marconi	Aceito
Outros	TermoDeResponsabilidadeEMENDAass OK.pdf	08/02/2018 21:05:34	Camila Marconi	Aceito
Outros	Emenda1_CampoLargo.pdf	05/02/2018 20:36:11	Camila Marconi	Aceito
Folha de Rosto	0_FolhaDeRosto.pdf	09/06/2018 10:34:26	Camila Marconi	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Avaliação da CONEP:**

Não

CURITIBA, 08 de Outubro de 2018

---

**Assinado por:**  
**IDA CRISTINA GUBERT**  
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

## ANEXO 2

## TCLE

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu, Camila Marconi, Professora do Departamento de Patologia Básica do Setor de Ciência Biológica da Universidade Federal do Paraná, convido a senhora, atualmente gestante, para participar da pesquisa **"Busca ativa das infecções do trato genital inferior e alterações de microbiota vaginal em gestantes de alto risco para prematuridade"**, que tem por objetivo conhecer os tipos de micro-organismos que infectam o colo uterino e a vagina da mulher ao longo da gravidez e como eles se relacionam com o parto prematuro. Essa pesquisa é realizada em conjunto com o Prof. Dr. Newton Sérgio Carvalho Hospital de Clínicas da UFPR além do Prof. Dr. Marcos Takimura da Maternidade Victor Ferreira do Amaral, das Dras Carolina Andrade e Joany Helen Lopes Unidade Básicas de Saúde de Campo Largo e Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Para sua participação será necessário responder as questões da entrevista e realizar um exame ginecológico com as pessoas autorizadas para isso (médicos) que fazem parte do estudo. Para o exame, será necessária a introdução de um aparelho de metal ou plástico, estéril, conhecido como "bico de pato" (espéculo), que afastará as paredes vaginais, a fim de permitir a visualização das paredes vaginais e do colo do útero, bem como a coleta de amostras (secreção) para exames laboratoriais. O material da parede vaginal e do colo do útero será coletado por meio de um cotonete, para verificação da presença de micro-organismos. Esse é um exame ginecológico comum em que o desconforto está relacionado à introdução do espéculo. Esse material coletado será analisado na Universidade Federal do Paraná e também na Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, pela responsável pelo projeto a Dra. Camila Marconi, portanto seu material será transportado dentro do país, com fins exclusivamente de pesquisa. O material será o suficiente para fazer essa pesquisa, de forma que não haverá sobra de material para ser estocada, nem na UFPR e nem na UNESP.

Pelo presente instrumento, eu \_\_\_\_\_, devidamente esclarecida, ciente dos procedimentos aos quais serei submetida, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, declaro estar ciente de que as informações serão utilizadas exclusivamente pelos pesquisadores, que manterão sigilo sobre minha identidade, inclusive em relação às amostras que serão transportadas que não serão identificadas com meu nome apenas com um número gerado para a pesquisa. Também estou ciente que os pesquisadores envolvidos nesse estudo estarão disponíveis para responder a quaisquer perguntas e de que **posso retirar este consentimento a qualquer hora sem prejuízo do meu atendimento neste Hospital**, firmo meu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**, concordando em participar dessa pesquisa. E de meu conhecimento que não receberei qualquer ajuda financeira para a participação no projeto e nem terei que pagar pelos exames realizados. Está esclarecido também que esse estudo poderá trazer benefícios para mim, visto que caso haja exame(s) positivo(s) para qualquer infecção será oferecido para mim o tratamento adequado. Além disso, compreendo que esse estudo será importante para o entendimento de como os microrganismos que vivem na vagina e no colo do útero podem oferecer maior risco para o parto prematuro.

Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, no telefone (41) 3360-7259 ou com os pesquisadores, cujos dados encontram-se abaixo. Esse documento, após a aprovação do CEP, será elaborado em 2 vias, sendo uma entregue às participantes da pesquisa e outra será mantida em arquivo do pesquisador.

Curitiba, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Assinatura da participante

Profa. Dra. Camila Marconi  
Dept. de Patologia Básica, Setor de Ciências Biológicas, UFPR  
Jardim das Américas, Curitiba, Paraná - CEP: 81531-980  
Fone: (41) 3328-3516 Horário: 8:00 às 18 horas  
e-mail: marconi@ufpr.br

Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva  
Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, UNESP  
Distrito de Rubião Jr. s/n, Botucatu, São Paulo - CEP: 81531-980  
Fone: (14) 3860-1580 Horário: 8:00 às 18 horas  
e-mail: mgsilva@fmb.unesp.br

Prof. Dr. Marcos Takimura  
Maternidade Victor Ferreira do Amaral  
Av. Iguaçu, 1953 - Água Verde, Curitiba - PR, 81250-190  
Fone: (41) 3312-5000. Horário: 14:00 às 18 horas

Prof. Dr. Newton Sérgio de Carvalho  
Departamento de Tocoginecologia, Setor de Ciências da Saúde, UFPR  
Hospital de Clínicas, 6º andar - Alto da Glória, Curitiba - PR, CEP 80060-240  
Fone: (41) 3360-1800. Horário: 14:00 às 18 horas

Dra. Carolina Andrade  
Unidade da Mulher e da Criança  
Rua Haroldo Reitz, 2412, Campo Largo - PR, 82601-100  
Fone: (41) 3393-4899 Horário: 8:00 às 17 horas

Dra. Joany Helen Lopes

Prof. Dr. Edson Gomes Tristão  
Departamento de Tocoginecologia, Setor de Ciências da Saúde, UFPR  
Hospital de Clínicas, 6º andar - Alto da Glória, Curitiba - PR, CEP 80060-240  
Fone: (41) 3360-1800. Horário: 14:00 às 18 horas

Prof. Dr. Natalia Sales

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa  
em Seres Humanos do Setor de Ciências da  
Saúde/UFPR.  
Parecer CEP/SD-PB.nº 294/2012  
na data de 07/10/2012

## ANEXO 3

### QUESTIONÁRIO



## Projeto Prematuridade

Folha 1/2

Identificação: \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_  
 Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Telefone para contato: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_  
 Idade Gestacional: \_\_\_\_ semanas e \_\_\_\_ dias ( ) US ( ) DUM

1. Mora com o parceiro: ( ) Sim ( ) Não
2. Etnia: ( ) Caucasiano/europeu ( ) Afro-americano ( ) Indígena ( ) Oriental
3. Exerce atividade remunerada? ( ) Sim ( ) Não
4. Algum outro membro da família contribui para renda mensal? ( ) Sim ( ) Não
  - a. Renda mensal aproximada: \_\_\_\_\_
  - b. Quantos indivíduos são sustentados por essa renda? \_\_\_\_\_
5. Tabagismo :  
 ( ) Não  
 ( ) Sim, parou há mais de 1 ano  
 ( ) Sim, parou há menos de 1 ano  
 ( ) Sim, continua fumando. Quantidade: \_\_\_\_ / cigarros por dia
6. Faz uso de álcool?  
 ( ) Não  
 ( ) Sim, até descobrir a gestação  
 ( ) Sim, continua bebendo. Frequência: \_\_\_\_\_
7. Faz uso de drogas ilícitas? ( ) Sim ( ) Não
  - a. Qual(is)?  
 Maconha ( )  
 Crack ( )  
 Cocaína ( )  
 Heroína ( )  
 Outras: \_\_\_\_\_
8. Novo parceiro (<4 meses) ( ) Sim ( ) Não
9. Número de parceiros (12 meses): \_\_\_\_\_
10. Relações sexuais por semana: \_\_\_\_\_
11. Teve alguma DST? ( ) Sim ( ) Não
  - a. Qual/Quando: \_\_\_\_\_
12. Teve corrimento tratado? ( ) Sim ( ) Não
  - a. Caso sim, com prurido associado? ( ) Sim ( ) Não
13. Em relação às gestações anteriores:
  - a. Aborto espontâneo < 3 meses? ( ) Sim ( ) Não
  - b. Recém nascido prematuro? ( ) Sim ( ) Não
  - c. Trabalho de parto prematuro? (<37 semanas) ( ) Sim ( ) Não
  - d. Rotura de membrana prematura? (<37 semanas) ( ) Sim ( ) Não
14. Data do último preventivo \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Folha 1/2

- a. Resultado: ( ) Normal ( ) Alterações citopatológicas  
b. Tratamento: \_\_\_\_\_

**Queixas atuais:**

Corrimento atual anormal: ( ) Sim ( ) Não

Mau odor: ( ) Sim ( ) Não

Prurido: ( ) Sim ( ) Não

**Exame Físico:**

Ph: \_\_\_\_\_

Demais achados cervicovaginais: (JEC, mucopus, vulvite, aspectoconteúdo vaginal....)

---

---

---

---

---